

| | |
|--|-----------|
| 1. ÚVOD | 5 |
| 2.0 OBECNÁ ČÁST | 8 |
| 2.1 Vybavení mikrobiologické laboratoře | 8 |
| 2.2 Příprava přístrojů a pomůcek pro mikrobiologické zkoušky | 15 |
| 2.3 Odběr vzorků potravin, surovin, krmiv a pitné vody pro rozbor v laboratoři | 16 |
| 2.4 Zpracování vzorků v laboratoři pro mikrobiologické zkoušení | 21 |
| 2.5 Mikrobiologické zkoušení | 22 |
| 2.6 Kultivační média pro mikrobiologické zkoušky | 24 |
| 2.7 Inkubace vzorku | 30 |
| 2.8 Získání čisté kultury pro identifikaci | 31 |
| 2.9 Růst bakterií na živných půdách a jeho hodnocení | 32 |
| 2.10 Vyjádření výsledků | 35 |
| 3.0 MIKROSKOPICKÉ METODY PRŮKAZU MIKROORGANISMŮ | 38 |
| 3.1 Práce s mikroskopem | 40 |
| 3.2 Příprava nativního preparátu | 41 |
| 3.3 Příprava trvalého preparátu | 43 |
| 3.4 Jednoduché barvení | 44 |
| 3.5 Negativní barvení | 46 |
| 3.6 Gramovo barvení | 48 |
| 3.7 Acidorezistentní barvení (metoda Ziehl-Neelsenova) | 51 |
| 3.8 Barvení spor (Schaeffer-Fultonova metoda) | 54 |
| 3.9 Barvení pouzder (kapsulí) | 56 |
| 4.0 IDENTIFIKACE MIKROORGANISMŮ POMOCÍ BIOCHEMICKÝCH TESTŮ | 58 |
| 4.1 Extracelulární enzymatická aktivita mikroorganismů | 58 |
| Hydrolyza škrobu (důkaz amyláz) | 58 |
| Hydrolyza kaseinu | 59 |
| Hydrolyza lipidů | 60 |

| | |
|---|-----------|
| Hydrolyza želatiny | 60 |
| 4.2 Intracelulární enzymatická aktivita mikroorganismů | 66 |
| Schopnost fermentace sacharidů | 66 |
| Stanovení aktivity β -D-galaktosidázy (ONP test, test na fermentaci laktózy) | 68 |
| O-F test (oxidačně-fermentační test) | 69 |
| IMViC testy (indol, methylová červec, Voges-Proskauer test, užití citrátů) | 71 |
| Důkaz tvorby indolu (test na aktivitu tryptofanázy) | 71 |
| Schopnost mikroorganismů asimilovat anorganický uhlík (test na stanovení užití citrátů) | 73 |
| Test na stanovení produkce H ₂ S | 76 |
| Test produkce ureázy | 79 |
| Schopnost redukce dusičnanů (test na stanovení aktivity nitratázy) | 81 |
| Test na tvorbu katalázy | 82 |
| Stanovení aktivity cytochromoxidázy (cytochromoxidázový test, oxidázový test) | 83 |
| Decarboxylace aminokyselin (test na stanovení aktivity decarboxylas) | 86 |
| Deaminace fenylalaninu (test na stanovení aktivity fenylalanindeaminázy) | 87 |
| 4.3 Identifikace mikroorganismů pomocí diagnostických testů | 89 |
| 4.4 Doplnkové testy | 90 |
| Sledování pohyblivosti buněk | 90 |
| Důkaz produkce hemolysinů (hemolytická činnost bakterií) | 92 |
| 5.0 IDENTIFIKACE MIKROORGANISMŮ POMOCÍ KULTIVAČNÍCH METOD | 94 |
| 5.1 Stanovení celkového počtu mikroorganismů (CPM) plotnovou metodou | 94 |
| 5.2 Stanovení počtu jednotek psychrotrofních mikroorganismů v mléku | 98 |
| 5.3 Stanovení celkového počtu mikroorganismů a celkového množství psychrotrofních mikroorganismů v pitných vodách | 101 |
| 5.4 Stanovení počtu kvasinek a plísní plotnovou metodou | 104 |
| 5.5 Stanovení počtu mezofilních bakterií mléčného kvašení plotnovou metodou | 107 |
| 5.6 Stanovení počtu presumptivního <i>Lactobacillus acidophilus</i> plotnovou metodou | 111 |
| 5.7 Stanovení počtu bakterií rodu <i>Bifidobacterium</i> plotnovou metodou | 115 |
| 5.8 Stanovení počtu bakterií čeledi <i>Enterobacteriaceae</i> plotnovou metodou | 118 |
| 5.9 Stanovení počtu koliformních bakterií plotnovou metodou | 122 |

| | |
|---|-----|
| 5.10 Stanovení počtu enterokoků plotnovou metodou | 126 |
| 5.11 Stanovení počtu bakterií rodu <i>Pseudomonas</i> | 130 |
| 5.12 Průkaz bakterií rodu <i>Salmonella</i> | 134 |
| 5.13 Stanovení <i>E. coli</i> | 139 |
| 5.14 Stanovení <i>Yersinia enterocolitica</i> | 143 |
| 5.15 Stanovení termotolerantních druhů rodu <i>Campylobacter</i> | 147 |
| 5.16 Metoda průkazu <i>Listeria monocytogenes</i> | 151 |
| 5.17 Stanovení počtu <i>Clostridium perfringens</i> | 158 |
| 5.18 Stanovení počtu <i>Bacillus cereus</i> | 162 |
| 5.19 Stanovení počtu koagulázopozitivních stafylokoků (<i>Staphylococcus aureus</i> a další druhy) | 166 |

6.0 IDENTIFIKACE MIKROORGANISMŮ POMOCÍ METOD MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE **170**

| | |
|---|-----|
| 6.1 Izolace bakteriální DNA pro PCR | 171 |
| 6.2 Elektroforéza v agarózovém gelu | 174 |
| 6.3 Stanovení koncentrace a čistoty DNA | 178 |
| Spektrofotometrické stanovení koncentrace a čistoty DNA | 179 |
| Odhad koncentrace bakteriální DNA na agarózovém gelu | 179 |
| 6.4 Amplifikace DNA polymerázovou řetězovou reakcí | 181 |
| Identifikace bakterií rodu <i>Lactobacillus</i> | 181 |
| Identifikace bakterií rodu <i>Enterococcus</i> | 184 |
| Identifikace bakterií rodu <i>Bifidobacterium</i> | 187 |

7. LITERATURA **190**

8. PŘÍLOHY **197**

| | |
|---|-----|
| Roztoky a činidla pro barvení | 197 |
| Roztoky a činidla pro biochemické testy | 198 |
| Živné půdy | 200 |
| Roztoky pro metody molekulární biologie | 207 |